

08.10.2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

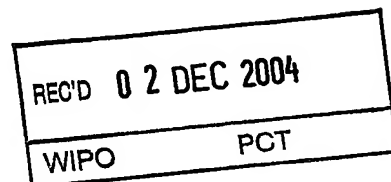
別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 2 0 0 3 年 1 0 月 2 1 日
Date of Application:

出 願 番 号 特 願 2 0 0 3 - 3 6 1 0 1 9
Application Number:
[ST. 10/C] : [J P 2 0 0 3 - 3 6 1 0 1 9]

出 願 人 富士写真フイルム株式会社
Applicant(s):

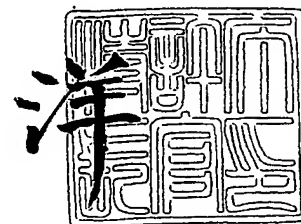


PRIORITY DOCUMENT
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年 1 1 月 1 9 日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



出証番号 出証特 2 0 0 4 - 3 1 0 5 2 1 4

【書類名】 特許願
【整理番号】 0310038
【提出日】 平成15年10月21日
【あて先】 特許庁長官 殿
【国際特許分類】 A61M 1/34
B01D 15/00
C12N 15/10

【発明者】
【住所又は居所】 神奈川県小田原市扇町2丁目12番1号
富士写真フイルム株式会社内
【氏名】 繁定 啓司

【発明者】
【住所又は居所】 神奈川県小田原市扇町2丁目12番1号
富士写真フイルム株式会社内
【氏名】 藤原 盛男

【発明者】
【住所又は居所】 埼玉県朝霞市泉水3丁目11番46号
富士写真フイルム株式会社内
【氏名】 森 寿弘

【特許出願人】
【識別番号】 000005201
【氏名又は名称】 富士写真フイルム株式会社

【代理人】
【識別番号】 100064414
【弁理士】
【氏名又は名称】 磯野 道造
【電話番号】 03-5211-2488

【手数料の表示】
【予納台帳番号】 015392
【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】
【物件名】 特許請求の範囲 1
【物件名】 明細書 1
【物件名】 図面 1
【物件名】 要約書 1
【包括委任状番号】 0016369

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

有底筒状の筒状本体の底部に開口を有し、前記底部に核酸吸着性多孔性膜を支持した核酸分離精製カートリッジであって、

前記核酸吸着性多孔性膜は、その周縁部が前記筒状本体の筒部を形成する成形材料により挟持され、

前記核酸吸着性多孔性膜を挟持する一方の部分である前記底部を形成する底部材に前記核酸吸着性多孔性膜を配置した上でこれらを射出成型型のキャビティ内にインサートし、さらにこのキャビティ内に成形材料を射出することで、前記核酸吸着性多孔性膜を挟持する他方の部分である前記筒状本体の筒部を形成する部分が前記底部材と一体化されて成形されると同時に、前記核酸吸着性多孔性膜を挟持したことを特徴とする核酸分離精製カートリッジ。

【請求項 2】

有底筒状の筒状本体の底部に開口を有し、前記底部に核酸吸着性多孔性膜を支持した核酸分離精製カートリッジの製造方法であって、

前記筒状本体の底部を有して前記筒状本体の一部を形成する底部材の該底部に、前記核酸吸着性多孔性膜を配置した状態で、前記底部材および前記核酸吸着性多孔性膜を射出成型型のキャビティ内に配置する工程と、

前記核酸吸着性多孔性膜にコアピンを押し当て、前記コアピンの周囲に前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部がはみ出した状態で前記核酸吸着性多孔性膜を保持するとともに射出成型型を閉じる工程と、

前記キャビティ内に成形材料を射出し、前記筒状本体の筒部を成形すると同時に前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部を成形材料と前記底部とで挟持する工程と、

前記射出成型型から成形体を取り出す工程と、

を有することを特徴とする核酸分離精製カートリッジの製造方法。

【書類名】明細書

【発明の名称】核酸分離精製カートリッジ及びその製造方法

【技術分野】

【0001】

本発明は、インサート射出成形により製造される核酸分離精製カートリッジ及びその製造方法に関する。

【背景技術】

【0002】

核酸は、様々な分野において種々の形態で使用されているが、多くの場合、核酸は極めて少量でしか入手できず、単離および精製操作が煩雑で時間を要する。

【0003】

この核酸を簡便かつ効率的に分離精製する方法として、少なくとも2個の開口を有する容器内に、表面に水酸基を有する有機高分子から成る固相を収容した核酸分離精製ユニットを用いた方法が、特許文献1に記載されている。この方法は、まず、核酸を含む試料溶液中に、前記核酸分離精製ユニットの一の開口を入没させる。次いで、他の一の開口に接続された圧力差発生装置を用いて、前記核酸分離精製ユニットの内部を減圧状態にして、試料溶液を容器内に吸入する。この操作により、試料溶液が固相と接触して試料溶液中に存在する核酸が固相に吸着する。続いて、圧力差発生装置を用いてユニットの容器内を加圧して、吸引した試料溶液を排出する。

【0004】

次に、前記と同様の減圧－加圧操作で洗浄液を容器内に吸入した後、容器から排出して容器内を洗浄する。この洗浄液は容器内に残留する試料溶液を洗い流すと共に、核酸と一緒に固相に吸着した試料溶液中の不純物も洗い流す機能を有する。更に、固相に吸着した核酸を離脱させるための回収液を、上記と同様の減圧－加圧操作によって容器内に吸入し、容器から排出する。この排出された回収液には目的とする核酸が含まれているので、これを回収することにより分離精製が完了する。

【0005】

ここで、核酸を吸着させる固相としては、核酸吸着性多孔性膜が一般的に用いられている。

また、このような核酸分離精製ユニット（核酸分離精製カートリッジ）の構造としては、当該ユニットの容器を構成する2つの筒状の部品により核酸吸着性多孔性膜を挟みつけて保持する構造が一般的である。そして、この2つの筒状の部品の固着方法としては、超音波溶着、レーザーによる熱溶着、接着剤、ネジなどによって固着する方法が用いられている。

【特許文献1】特開2003-128691号公報（段落0032～0050、図1）

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

しかしながら、容器を構成する2つの筒状の部品を射出成形により製造し、一方の筒状の部品の内部に核酸吸着性多孔性膜を挿入し、組み立て加工機で2つの筒状の部品を組み合わせる核酸分離精製ユニットを製造する場合は、2つの筒状の部品を組み合わせる後に、超音波溶着やレーザーによる熱溶着等を行って筒状の部品同士を固着する必要がある。そのため、2つの筒状の部品を固着するための専用設備（例えば超音波溶着機等）が必要となる。

【0007】

また、核酸分離精製ユニットは、試料溶液を加圧して核酸吸着性多孔性膜を通過させることから、核酸吸着性多孔性膜の側面（容器と核酸吸着性多孔性膜の接触部）からの試料溶液の回り込みを防止するために、容器を構成する2つの部品によって核酸吸着性多孔性膜の周縁部をしっかりと押さえつけて挟持する必要がある。

しかしながら、多数個の筒状の部品を同時に押し付けて核酸吸着性多孔性膜を挟持させて多数個の核酸分離精製カートリッジを同時に製造すると、製造誤差により部品の高さにはばらつきがあることから、核酸吸着性多孔性膜を押し潰す力に差が生じ、押し潰す力が足りない場合にはシール不良となり、押し潰す力が強すぎる場合には核酸吸着性多孔性膜が破れてしまうおそれがある。そのため、この方法では、同時に多数個の核酸分離精製カートリッジを製造することが困難と考えられる。

【0008】

本発明は、これらの問題を解決するためになされたものであり、容器を固着するための専用設備が不要であり、多数個を同時に製造することができる核酸分離精製カートリッジ及びその製造方法を提供することを課題とする。

【課題を解決するための手段】

【0009】

本発明に係る核酸分離精製カートリッジは、有底筒状の筒状本体の底部に開口を有し、前記底部に核酸吸着性多孔性膜を支持した核酸分離精製カートリッジであって、前記核酸吸着性多孔性膜は、その周縁部が前記筒状本体の筒部を形成する成形材料により挟持され、前記核酸吸着性多孔性膜を挟持する一方の部分である前記底部を形成する底部材に前記核酸吸着性多孔性膜を配置した上でこれらを射出成型型のキャビティ内にインサートし、さらにこのキャビティ内に成形材料を射出することで、前記核酸吸着性多孔性膜を挟持する他方の部分である前記筒状本体の筒部を形成する部分が前記底部材と一体化されて成形されると同時に前記核酸吸着性多孔性膜を挟持したことを特徴とする。

【0010】

本発明に係る核酸分離精製カートリッジによれば、核酸吸着性多孔性膜を挟持する一方の部分である底部を形成する底部材に核酸吸着性多孔性膜を配置した上でこれらを射出成型型のキャビティ内にインサートし、さらにこのキャビティ内に成形材料を射出することで、核酸吸着性多孔性膜を挟持する他方の部分である前記筒状本体の筒部を形成する部分が前記底部材と一体化されて成形されると同時に核酸吸着性多孔性膜を挟持することから、従来必要とされていた超音波溶着機等の固着のための専用設備が不要となり、射出成型装置のみで核酸分離精製カートリッジを製造することが可能となる。また、部品の製造誤差による核酸吸着性多孔性膜の押圧力の差によって核酸吸着性多孔性膜が破れたりシール不足となったりすることがない。

【0011】

また、前記底部材は、前記底部の開口に連通する筒状の排出部（ノズル）をさらに備えていることが好ましい。これにより、核酸吸着性多孔性膜を通過した液体が飛び散ることなく排出部の先端から流下する。

【0012】

また、前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部は、前記筒状本体の筒部を形成する成形材料の射出圧力により押し潰されて挟持されていることが好ましい。これにより、核酸吸着性多孔性膜の周縁部の内部に無数に存在する空隙（孔）が潰されることとなり、当該周縁部に試料溶液や洗浄液が残留することがなく、また、核酸吸着性多孔性膜の側面へ試料溶液が回り込むことがない。

【0013】

また、前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部は、内部の空隙がなくなるまで押し潰されていることが好ましい。これにより、試料溶液等の残留や回り込みを確実に防止することができる。

【0014】

また、前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部は、もとの膜厚の10%から70%の膜厚になるまで押し潰されていることが好ましい。これにより、核酸吸着性多孔性膜の周縁部の内部に無数に存在する空隙（孔）が押し潰されてなくなることから、試料溶液等の残留や回り込みを確実に防止することができる。

【0015】

また、前記核酸分離精製カートリッジが複数個つながった状態で同時に成形されてなる核酸分離精製カートリッジ群においては、前記射出成型型は前記キャビティを複数個備えており、前記複数個のキャビティ内には前記底部材に前記核酸吸着性多孔性膜が配置された上でこれらがそれぞれインサートされ、さらに前記複数個のキャビティは互いに連通していることが好ましい。

【0016】

かかる核酸分離精製カートリッジ群によれば、前記射出成型型は前記キャビティを複数個備えており、前記複数個のキャビティ内には前記底部材に前記核酸吸着性多孔性膜が配置された上でこれらがそれぞれインサートされ、さらに前記複数個のキャビティは互いに連通していることから、同じ射出圧力で射出される樹脂がそれぞれのキャビティに充填されることとなるため、核酸吸着性多孔性膜を押圧する力が等しくなり、シール不足や破れが発生することなく、同時に多数の核酸分離精製カートリッジを、或いは、多数の核酸分離精製カートリッジが連結された核酸分離精製カートリッジ群を、製造することができる。

。

【0017】

ここで、「つながった状態」とは、カートリッジ同士が直接つながった状態であってもよいし、ランナーによってつながっている状態でもよい。これにより、複数の核酸分離精製カートリッジを同時に製造することが可能となるため、製造効率を飛躍的に向上させることができる。

【0018】

本発明に係る核酸分離精製カートリッジの製造方法は、有底筒状の筒状本体の底部に開口を有し、前記底部に核酸吸着性多孔性膜を支持した核酸分離精製カートリッジの製造方法であって、前記筒状本体の底部を有して前記筒状本体の一部を形成する底部材の底部に、前記核酸吸着性多孔性膜を配置した状態で、前記底部材および前記核酸吸着性多孔性膜を射出成型型のキャビティ内に配置する工程と、前記核酸吸着性多孔性膜にコアピンを押し当て、前記コアピンの周囲に前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部がはみ出した状態で前記核酸吸着性多孔性膜を保持する工程と、前記射出成型型を閉じる工程と、前記キャビティ内に成形材料を射出し、前記筒状本体の筒部を成形すると同時に前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部を成形材料と前記底部とで挟持する工程と、前記射出成型型から成形体を取り出す工程と、を有することを特徴とする。

【0019】

本発明に係る核酸分離精製カートリッジの製造方法によれば、筒状本体の底部を有して筒状本体の一部を形成する底部材の底部に、核酸吸着性多孔性膜を配置した状態で、底部材および核酸吸着性多孔性膜を射出成型型のキャビティ内に配置する工程と、核酸吸着性多孔性膜にコアピンを押し当て、コアピンの周囲に核酸吸着性多孔性膜の周縁部がはみ出した状態で核酸吸着性多孔性膜を保持する工程と、射出成型型を閉じる工程と、キャビティ内に成形材料を射出し、筒状本体の筒部を成形すると同時に核酸吸着性多孔性膜の周縁部を成形材料と底部とで挟持する工程と、射出成型型から成形体を取り出す工程と、を有することから、超音波溶着機等を用いて筒状の部品同士を固着する工程が不要となり、射出成型装置のみで核酸分離精製カートリッジを製造することが可能となる。また、部品の製造誤差（寸法誤差）による核酸吸着性多孔性膜の押圧力の差によって核酸吸着性多孔性膜が破れたりシール不足となったりすることがない。

【0020】

また、前記核酸分離精製カートリッジの製造方法においては、前記コアピンは、前記核酸吸着性多孔性膜を、もとの膜厚の10%から70%の膜厚になるまで押し潰して保持することが好ましい。これにより、成形材料の注入圧によって核酸吸着性多孔性膜がずれたりしわがよったりすることがない。

【0021】

また、前記核酸分離精製カートリッジの製造方法においては、前記コアピンの先端部は、その周縁部から中心部に向かって円錐形状に形成されていることが好ましい。これによ

り、コアピンは自律的に調心される。

【0022】

また、前記核酸分離精製カートリッジの製造方法においては、前記コアピンの周囲にはみ出した前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部を、前記キャビティ内に射出された成形材料の射出圧力により、内部の空隙がなくなるまで押し潰すことが好ましい。これにより、試料溶液等の残留や回り込みを確実に防止することができる。

【0023】

また、前記核酸分離精製カートリッジの製造方法においては、前記コアピンの周囲にはみ出した前記核酸吸着性多孔性膜の周縁部を、前記キャビティ内に射出された成形材料の射出圧力により、もとの膜厚の10%から70%の膜厚になるまで押し潰すことが好ましい。これにより、核酸吸着性多孔性膜の周縁部の内部に無数に存在する空隙（孔）が押し潰されてなくなることから、試料溶液等の残留や回り込みを確実に防止することができる。

【0024】

また、前記核酸分離精製カートリッジの製造方法により多数の核酸分離精製カートリッジを同時に製造する方法においては、前記射出成型型は前記キャビティを複数個備えており、前記複数個のキャビティ内には前記底部材に前記核酸吸着性多孔性膜が配置された上でこれらがそれぞれインサートされ、さらに前記複数個のキャビティは互いに連通していることが好ましい。

【0025】

このような、多数の核酸分離精製カートリッジを同時に製造する方法によれば、射出成型型はキャビティを複数個備えており、複数個のキャビティ内には底部材に核酸吸着性多孔性膜が配置された上でこれらがそれぞれインサートされ、さらに複数個のキャビティは互いに連通していることから、同じ射出圧力で射出される樹脂がそれぞれのキャビティに充填されることとなるため、核酸吸着性多孔性膜を押圧する力が等しくなり、シール不足や破れが発生することなく、同時に多数の核酸分離精製カートリッジを、或いは、多数の核酸分離精製カートリッジが連結された核酸分離精製カートリッジ群を、製造することができる。

【発明の効果】

【0026】

本発明に係る核酸分離精製カートリッジ及びその製造方法によれば、容器を固着するための専用設備が不要となり、また、多数個を同時に製造することが容易となる。したがって、製造設備費を大幅に削減することができるとともに、製造効率を飛躍的に増大させることができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0027】

<第1の実施形態>

本発明の第1の実施形態について、適宜図面を参照しながら説明する。参照する図1は、第1の実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの分解斜視図であり、図2は、第1の実施形態に用いるインサート材の拡大断面斜視図である。

【0028】

(核酸分離精製カートリッジの構造)

図1に示すように、本発明の一実施形態に係る核酸分離精製カートリッジ1は、底部材20と核酸吸着性多孔性膜30とからなるインサート材10と、このインサート材10に対してインサート射出成形されるバレル40とから構成されている。

なお、本実施形態に係る核酸分離精製カートリッジ1のバレル40は、インサート射出成形により、底部材20及び核酸吸着性多孔性膜30と一体的に形成されるものであるが、図1においては、説明の便宜上、バレル40を分離して示している。

【0029】

なお、図1に示すバレル40、底部21および底部側融着部23が、特許請求の範囲に

いう「筒状本体」に相当する。また、バレル 40 が、特許請求の範囲にいう「筒状本体の筒部を形成する部分」に相当する。

【0030】

(インサート材 10)

インサート材 10 は、核酸分離精製カートリッジ 1 の底部側を構成する底部材 20 と、核酸を吸着して採取するための核酸吸着性多孔性膜 30 とから構成される。インサート材 10 は、核酸分離精製カートリッジ 1 を成形するための射出成型型（底部側金型 50 及びバレル側金型 60）に予めセットされ（図 3 参照）、キャビティ 51 に溶融した樹脂 J が注入されることにより、当該樹脂 J により成形されるバレル 40 と融着される。なお、かかる樹脂 J が、特許請求の範囲にいう「成形材料」に相当する。

【0031】

(底部材 20)

底部材 20 は、中央に開口部 21a が形成された底部 21 と、この底部 21 の下面から延出するノズル 22（排出部）と、ノズル 22 とは反対側に向かって底部 21 の外周に沿って筒状に延出する底部側融着部 23 とから構成されている。ノズル 22 の先端には排出口 22a が形成されており、底部 21 の開口部 21a と連通している。底部側融着部 23 は、後記するバレル 40 のバレル側融着部 42 と融着する部分であり、その内径は、核酸吸着性多孔性膜 30 の直径と略等しく形成されている。

【0032】

底部材 20 の底部 21 には、図 2 に示すように、底面 21b の外周に沿って、底面 21b よりも 1 段高くなった挟持面 25 が環状に形成されている。挟持面 25 は、後記する核酸吸着性多孔性膜 30 の周縁部 30a と当接する面であり、平坦に形成されている。底面 21b は、挟持面 25 側から開口部 21a 側に向かうほど低くなる（排出口 22a 側に近づく）ように傾斜しており、試料溶液が排出され易くなっている。また、底面 21b には、6 本（図 2 においては 3 本のみ図示）のリップ 26 が放射状に形成されている。リップ 26 は、底面 21b から突出しており、底面 21b の傾斜角度よりゆるい角度で、挟持面 25 側から開口部 21a 側に向かうほど低くなるように傾斜している。

【0033】

(核酸吸着性多孔性膜 30)

核酸吸着性多孔性膜 30 は、前記した底部側融着部 23 の内径と略同一の直径をした円形状の膜部材である。核酸吸着性多孔性膜 30 は、無数の微細な孔を有しており、試料溶液を濾過して核酸を抽出できるようになっている。また、核酸吸着性多孔性膜 30 は、前記した底部材 20 の挟持面 25 の上に載置されて、インサート材 10 を構成する（図 2 参照）。核酸吸着性多孔性膜 30 の周縁部 30a は、挟持面 25 に当接する部分であり、後記するバレル 40 の射出成形時の注入圧により挟持面 25 に押し付けられて保持される。

【0034】

(バレル 40)

バレル 40 は、図 1 に示すように、円筒状のバレル本体 41 と、バレル本体 41 に連なる円筒状のバレル側融着部 42 とからなる。バレル 40 は、インサート材 10 を底部側金型 50 に設置した後（図 3 参照）、キャビティ 51 に樹脂 J を射出することにより成形される。バレル 40 の中空部 43 は、試料溶液等を一時的に貯留する部分であり、後記するバレル側金型 60 に備えられたコアピン 61 によって成形される（図 4 参照）。中空部 43 の上端は開口しており（開口 43a）、中空部 43 の下端は核酸吸着性多孔性膜 30 によって塞がれることとなる。バレル側融着部 42 は、コアピン 61 と底部材 20 の底部側融着部 23 との間に形成された隙間（図 5（b）のキャビティ 51a）に流入した樹脂 J により成形される。そのため、実際には、当該隙間に流入した樹脂 J の熱によって底部側融着部 23 の内周面 23a（図 2 参照）が溶融し、バレル 40 とインサート材 10 が一体化されることとなる。なお、底部側金型 50 及びバレル側金型 60 が、特許請求の範囲にいう「射出成型型」に相当する。

【0035】

(核酸分離精製カートリッジの製造方法)

続いて、核酸分離精製カートリッジの製造方法について、図面を参照して説明する。参照する図面において、図3は、核酸分離精製カートリッジと射出成型型の断面図であり、(a)はインサート材設置時、(b)は型閉じ時の状態をそれぞれ示している。また、図4は、同じく核酸分離精製カートリッジと射出成型型の断面図であり、(a)は樹脂注入時、(b)は注入完了時の状態をそれぞれ示している。

【0036】

なお、核酸分離精製カートリッジ1の製造には、公知の射出成型機を用いることができる。射出成型機は、射出成型型にインサート材10を設置する必要があることから、堅型射出成型機を用いるのが好ましいが、インサート材10(核酸吸着性多孔性膜30)を所定位置に保持することが可能であれば横型であってもよい。

【0037】

(インサート材10の設置)

はじめに、図3(a)に示すように、予め製造しておいた底部材20の底部21に、核酸吸着性多孔性膜30を設置して、インサート材10を作製する。そして、このインサート材10を底部側金型50に形成されたキャビティ51内に設置する。

なお、予めインサート材10を作製しておいてもよい。また、インサート材10の作製及びインサート材10の設置は、公知の組み立てロボットなどを用いて行うのが好ましい。

【0038】

(型閉じ及び核酸吸着性多孔性膜30の保持)

次に、図3(b)に示すように、インサート材10を設置した底部側金型50に、バレル側金型60を組み合わせて型閉じを行う。

【0039】

バレル側金型60は、核酸分離精製カートリッジ1の中空部43に相当する位置に、円柱状のコアピン61を備えている。コアピン61は、両金型50、60を閉じたときに、コアピン61の先端部62が核酸吸着性多孔性膜30の上面に当接して、底部材20の挟持面25との間で核酸吸着性多孔性膜30を挟みこむようになっている。このとき、核酸吸着性多孔性膜30は、次工程で注入する樹脂Jが漏れない程度に、所定の厚さまで圧縮される。換言すれば、コアピン61は、次工程で注入する樹脂Jが漏れない程度の厚さまで核酸吸着性多孔性膜30を圧縮するように、その長さが調節されている。核酸吸着性多孔性膜30の固定(押圧)については後に詳しく説明する。

また、バレル側金型60は、樹脂Jを注入するためのゲート63を備えており、キャビティ51に樹脂Jを注入可能となっている。

【0040】

(樹脂注入)

次に、図4(a)に示すように、底部側金型50とバレル側金型60とインサート材10によって形成されたキャビティ51に、溶融した樹脂Jを、ゲート63から射出する。このとき、キャビティ51内に充填された樹脂Jの射出圧力によって、核酸吸着性多孔性膜30の周縁部30aが押し潰される。換言すれば、核酸吸着性多孔性膜30の周縁部30aが好適に押し潰される程度の射出圧力をかけて、溶融した樹脂Jをキャビティに充填する。これについては後に詳しく説明する。

【0041】

(型開き及び核酸分離精製カートリッジ1の取り出し)

そして、図4(b)に示すように、樹脂Jの充填が完了し、樹脂Jが冷えて硬化したら、射出成型機(図示せず)を操作して型開きを行い、核酸分離精製カートリッジ1を取り出す。

【0042】

ここで、核酸吸着性多孔性膜30の周縁部30aが、注入された樹脂Jによって圧縮されて保持される様子について、図5を参照して詳しく説明する。参照する図面において、

図5は、図4(b)のA部を拡大して示した断面図であり、(a)は型閉じ時、(b)は型閉じ完了時、(c)は樹脂注入時、(d)は注入完了時の状態をそれぞれ示している。

【0043】

はじめに、型閉じ時においては、図5(a)に示すように、底部側金型50のキャビティ51内にインサート材10として底部材20と核酸吸着性多孔性膜30が設置されている。核酸吸着性多孔性膜30は、底部材20の底部21に形成された挟持面25上に周縁部30aが当接するように載置されている。この状態で、射出成形機(図示せず)を操作して、バレル側金型60を降下させる。

【0044】

バレル側金型60のコアピン61の直径は、底部材20の底部側融着部23の内径よりも小さく、かつ、挟持面25の内径よりも大きいように形成されている。したがって、型閉じが完了すると、コアピン61の先端部62の周縁部62aは、図5(b)に示すように、挟持面25の内周側端縁部との間において、核酸吸着性多孔性膜30の周縁部30aの一部を挟みこむこととなる。

【0045】

また、コアピン61の先端部62は、リブ26の上端面の傾斜に合わせて、周縁部62aから中心に向かって傾斜するように形成されている。したがって、型閉じが完了すると、核酸吸着性多孔性膜30は、図5(b)に示すように、リブ26の上端面とコアピン61の先端部62との間、並びに挟持面25の内周側端縁部とコアピン61の先端部62の周縁部62aとの間に挟まれて保持される。

なお、このようにコアピン61の先端部62が底部21の形状に合わせて山形状(錐状体形状)に形成されていることから、コアピン61は底部材20の中心へ自律的に調心される。そのため、コアピン61が偏心することがなく、所定の部材厚さ(キャビティ51aの空隙の幅)を確保することができる。

【0046】

コアピン61による核酸吸着性多孔性膜30の圧縮の程度は、核酸吸着性多孔性膜30を破くことがなく、かつ、樹脂Jの射出圧力によって核酸吸着性多孔性膜30がずれたりしわが寄ったり、樹脂Jが漏れたりしない程度に圧縮する必要がある。具体的には、膜厚の10%から70%程度の厚さに圧縮するのが好適である。

【0047】

このようにして核酸吸着性多孔性膜30が圧縮(保持)されると、この核酸吸着性多孔性膜30の周縁部30aと底部側融着部23の内周面23aとコアピン61の外周面61aとによって、バレル40のバレル側融着部42(図1参照)を成形するためのキャビティ51aが形成される。このとき、コアピン61の先端部62からはみ出している核酸吸着性多孔性膜30の周縁部30aは圧縮されていない。

なお、コアピン61が樹脂Jの注入圧によって僅かに傾いたり、底部側融着部23の部材厚さに誤差が生じたりすることを考慮して、キャビティ51aの空隙の幅W(図5(b)参照)は、0.2mm以上とするのが好ましく、0.5mm以上とするのがより好ましい。

【0048】

そして、ゲート63(図4(a)参照)から樹脂Jを注入すると、図5(c)に示すように、キャビティ51aに溶融した樹脂Jが充填される。このとき、溶融した樹脂Jは、核酸吸着性多孔性膜30に染み込まず、キャビティ51aに面した核酸吸着性多孔性膜30の周縁部30aを溶融した樹脂Jの液圧によって押圧する。したがって、所定の射出圧力で樹脂Jを射出することにより、核酸吸着性多孔性膜30の周縁部30aを所定の厚さに圧縮することができる。具体的には、当該周縁部30aの内部の空隙が無くなるまで圧縮する。たとえば、発明者による実験の結果、鹼化処理を施したトリアセチルセルロース製の核酸吸着性多孔性膜30(膜厚80 μ m)の場合、30 μ mまで圧縮することにより、試料溶液の回り込みを防止できることが確認されている。このとき、核酸吸着性多孔性膜30の周縁部30aの一部は、挟持面25の内周側端縁部とコアピン61の周縁部62

aとによって環状に挟み込まれているので、キャビティ51aに注入された樹脂Jが核酸吸着性多孔性膜30の中央側に流れ込むことがない。

【0049】

また、酸化处理を施したトリアセチルセルロース製の核酸吸着性多孔性膜30（膜厚80 μ m）と、樹脂Jとして樹脂温度200度のポリプロピレンを用いて、樹脂Jの射出圧力について実験を行った結果、樹脂Jの射出圧力が150kg/cm²以下の場合には、コアピン61の周囲からはみ出した核酸吸着性多孔性膜30の周縁部30aを圧縮しきれず、その膜厚は60 μ m程度であり、内部の空隙をつぶしきれていなかった。また、このようにして製造された核酸分離精製カートリッジ1を使用したところ、試料溶液が核酸吸着性多孔性膜30の側面に回りこんでしまった。一方、射出圧力が1500kg/cm²以上の場合には、製造時に核酸吸着性多孔性膜30が破れてしまった。

【0050】

図5（d）に示すように、樹脂Jが硬化してバレル40が成形された後に型開きを行うと、バレル40の中空部43からコアピン61が抜き取られる。このとき、核酸吸着性多孔性膜30の周縁部30aは、射出成形されたバレル側融着部42と挟持面25に挟まれて挟持されており、核酸分離精製カートリッジ1の底部21において支持される。また、底部側融着部23の内周面23aは、注入時の樹脂Jの熱により溶融し、バレル側融着部42の外周面42aと一体化する。

【0051】

これにより、バレル40が成形されると同時に核酸吸着性多孔性膜30が保持されることとなり、従来のようにカートリッジを構成する2つの部品を固着するための専用装置が不要となる。また、樹脂Jの射出圧力により核酸吸着性多孔性膜30を圧縮して保持するため、部品の寸法誤差による核酸吸着性多孔性膜30のシール不足や破れを心配する必要がない。

【0052】

（核酸分離精製カートリッジ1の使用法）

続いて、核酸分離精製カートリッジ1の使用法について説明する。参照する図6は、第1の実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの断面図である。

【0053】

核酸分離精製カートリッジ1を用いて、核酸を含む検体から核酸を分離精製する工程は、この工程を自動で行う自動装置を用いて行うことが好ましい。これにより、操作が簡便化および迅速化するだけでなく、作業者の技能によらず一定の水準の核酸を得ることが可能になる。

【0054】

例えば、前記した自動装置（図示せず）は、核酸分離精製カートリッジ1のバレル40の開口43aからノズル22の排出口22aへ向けて、核酸を含む試料溶液を、加圧ガスの一例である加圧エアにより通流させることで、核酸吸着性多孔性膜30に核酸を吸着させた後、同様に洗浄液Wを通流させて不純物を除去し、続いて、同様に回収液を通流させて核酸吸着性多孔性膜30に吸着した核酸を離脱させ、回収液と共に回収する分離精製動作を自動的に行う核酸分離精製装置であって、核酸分離精製カートリッジ1と試料溶液および洗浄液Wの排出液を収容する廃液容器と核酸を含む回収液を収容する回収容器とを保持する搭載機構と、核酸分離精製カートリッジ1に加圧エアを導入する加圧エア供給機構と、核酸分離精製カートリッジ1に洗浄液Wおよび回収液を分注する分注機構とを備えているものを使用することができる。

【0055】

前記搭載機構は、装置本体に搭載されるスタンドと、このスタンドに上下移動可能に支持され核酸分離精製カートリッジ1を保持するカートリッジホルダーと、このカートリッジホルダーの下方で核酸分離精製カートリッジ1に対する位置を交換可能に前記廃液容器および前記回収容器を保持する容器ホルダーとを備えてなるものが好適である。

【0056】

また、前記加圧エア供給機構は、下端部より加圧エアを噴出するエアノズルと、このエアノズルを支持して前記カートリッジホルダーに保持された核酸分離精製カートリッジ1に対し前記エアノズルを昇降移動させる加圧ヘッドと、この加圧ヘッドに設置され前記搭載機構のラックにおける核酸分離精製カートリッジ1の位置決めをする位置決め手段とを備えてなるものが好適である。

【0057】

また、前記分注機構は、洗浄液Wを分注する洗浄液分注ノズルと、回収液を分注する回収液分注ノズルと、前記洗浄液分注ノズルおよび前記回収液分注ノズルを保持し、前記搭載機構に保持された核酸分離精製カートリッジ1上を順に移動可能なノズル移動台と、洗浄液Wを収容した洗浄液ボトルより洗浄液Wを吸引し、前記洗浄液分注ノズルに供給する洗浄液供給ポンプと、回収液を収容した回収液ボトルより回収液を吸引し、前記回収液分注ノズルに供給する回収液供給ポンプとを備えてなるものが好適である。

【0058】

本発明において使用できる検体に制限はないが、例えば診断分野においては、検体として採取された全血、血漿、血清、尿、便、精液、唾液等の体液、あるいは植物（またはその一部）、動物（またはその一部）等、あるいはそれらの溶解物およびホモジネート等の生物材料から調製された溶液が対象となる。

【0059】

最初にこれらの検体について細胞膜および核膜を溶解して核酸を可溶化する試薬を含む水溶液で処理する。これにより細胞膜および核膜が溶解されて、核酸が水溶液内に分散し、核酸を含む試料溶液を得る。例えば、検体が全血の場合、これに塩酸グアニジン、T r i s、T r i t o n-X100、プロテアーゼK（S I G M A製）を添加し、60℃で10分インキュベートすることによって赤血球の除去、各種タンパク質の除去、白血球の溶解及び核膜の溶解がなされる。

【0060】

このようにして得られた試料溶液を、バレル40の中空部43に投入し（図6参照）、ノズル22へ向けて圧力をかけて通流させる。こうすると、試料溶液中の核酸が核酸吸着性多孔性膜30に吸着される。

【0061】

次に、図6に示すように、洗浄液Wをバレル40の開口43aからノズル22へ向けて圧力をかけながら通流させる。この洗浄液Wは、核酸吸着性多孔性膜30に吸着した核酸を離脱させずに、不純物を離脱させる組成を有するものである。この洗浄工程において、加圧した際、図6に示すように、核酸吸着性多孔性膜30がリブ26の傾斜形状に沿って、ノズル22側に向かって凸状に変形する。これにより、洗浄液Wが、底部21に残留することなく、速やかにノズル22から排出される。

【0062】

洗浄液Wは、水溶性有機溶媒および塩の双方、または水溶性有機溶媒もしくは塩のうちいずれか1つを含んでいる溶液であることが好ましい。アルコール等の水溶性有機溶媒は、核酸が難溶性であるので、核酸を保持したまま核酸以外の成分を離脱させるのに適している。また、塩を添加することにより、核酸の吸着効果が高まる。

【0063】

洗浄液Wに含まれる水溶性有機溶媒として、メタノール、エタノール、イソプロパノール、ブタノール、アセトン等を用いることができるが、エタノールを用いることが好ましい。また、洗浄液W中に含まれる水溶性有機溶媒は、好ましくは20～100容量%であり、より好ましくは40～80容量%である。

【0064】

また、洗浄液Wに含まれる塩は、ハロゲン化物の塩であることが好ましい。さらには、塩が、一価または二価のカチオンを有し、かつその塩が10mM以上含まれていることが好ましい。より好ましくは、塩が、塩化ナトリウムであり、さらには、この塩化ナトリウムが20mM以上含まれていることが好ましい。

【0065】

次に、精製蒸留水またはTEバッファ等の回収液をバレル40の開口43aからノズル22へ向けて圧力をかけながら通流させ、核酸を核酸吸着性多孔性膜30から離脱させて流し出し、ノズル22から排出された回収液（核酸を含有する回収液）を回収する。

【0066】

（各部材の材料等）

バレル40および底部材20の材料としては、ポリプロピレン、ポリスチレン、ポリカーボネート、ポリ塩化ビニル等のプラスチックを使用することができる。また、生分解性の材料も好適に使用することができる。また、バレル40および底部材20は透明であっても、着色してあってもよい。

【0067】

核酸吸着性多孔性膜30としては、イオン結合が関与しない弱い相互作用で核酸が吸着する多孔性膜が好適である。より好適には、核酸吸着性多孔性膜30は、親水基を有する多孔性膜であり、多孔性膜を形成する材料自体が、親水基を有する多孔性膜、または多孔性膜を形成する材料を処理もしくはコーティングすることによって親水基を導入した多孔性膜である。多孔性膜を形成する材料は有機物、無機物のいずれでもよい。例えば、多孔性膜を形成する材料自体が親水基を有する有機材料である多孔性膜、親水基を持たない有機材料の多孔性膜を処理して親水基を導入した多孔性膜、親水基を持たない有機材料の多孔性膜に対し親水基を有する材料でコーティングして親水基を導入した多孔性膜、多孔性膜を形成する材料自体が親水基を有する無機材料である多孔性膜、親水基を持たない無機材料の多孔性膜を処理して親水基を導入した多孔性膜、親水基を持たない無機材料の多孔性膜に対し親水基を有する材料でコーティングして親水基を導入した多孔性膜等を使用することができるが、加工の容易性から、多孔性膜を形成する材料は有機高分子等の有機材料を用いることが好ましい。

【0068】

親水基を有する多孔性膜としては、水酸基を有する有機材料の多孔性膜を挙げることができる。水酸基を有する有機材料としては、前記した特許文献1に記載のアセチルセルロースの表面鹸化物が挙げられる。アセチルセルロースとしては、モノアセチルセルロース、ジアセチルセルロース、トリアセチルセルロースのいずれでもよいが、特にトリアセチルセルロースが好ましい。この場合、鹸化処理の程度（鹸化度）で固相表面の水酸基の量（密度）をコントロールすることができる。核酸の分離効率を上げるためには、水酸基の量（密度）が多い方が好ましい。例えば、トリアセチルセルロース等のアセチルセルロースの場合には、鹸化率が5%以上であることが好ましく、10%以上であることがより好ましい。また、鹸化処理の程度（鹸化度）と多孔性膜の孔径との組合せにより、固相内部の水酸基の量（密度）をコントロールすることができる。この場合、多孔性膜は、表裏対称性の多孔性膜であってもよいが、表裏非対称性の多孔性膜を好適に使用することができる。

【0069】

また、水酸基を有する有機材料の多孔性膜として、アセチル価の異なるアセチルセルロースの混合物からなる有機高分子の多孔性膜も好適に使用することができる。特にアセチル価の異なるアセチルセルロースの混合物としては、トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースの混合物を好適に使用することができる。トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースの混合比は、99:1～1:99である事が好ましい。より好ましくは、トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースの混合比は、90:10～50:50である。

【0070】

アセチル価の異なるアセチルセルロースの混合物として、トリアセチルセルロースとモノアセチルセルロースの混合物、トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースとモノアセチルセルロースの混合物、ジアセチルセルロースとモノアセチルセルロースの混合物も使用する事ができる。

【0071】

また、水酸基を有する有機材料の多孔性膜としては、アセチル価の異なるアセチルセルロースの混合物を鹸化処理した有機材料からなる多孔性膜を挙げることができる。アセチル価の異なるアセチルセルロースの混合物を鹸化処理した有機材料は、トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースの混合物の鹸化物を好適に使用することができる。トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースの混合比は、99:1~1:99である事が好ましい。さらには、トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースの混合比は、90:10~50:50である事が好ましい。

【0072】

アセチル価の異なるアセチルセルロースの混合物を鹸化処理した有機材料として、トリアセチルセルロースとモノアセチルセルロースの混合物の鹸化物、トリアセチルセルロースとジアセチルセルロースとモノアセチルセルロースの混合物の鹸化物、ジアセチルセルロースとモノアセチルセルロースの混合物の鹸化物も使用する事ができる。

【0073】

また、核酸吸着性多孔性膜30には、厚さが10~500 μ mである多孔性膜を好適に使用する事ができる。より好適には、厚さが50~250 μ mである多孔性膜を使用する事ができる。

【0074】

また、核酸吸着性多孔性膜30には、最小孔径が0.22 μ m以上である多孔性膜を好適に使用する事ができる。より好適には、最小孔径が0.5 μ m以上である多孔性膜を使用する事ができる。また、核酸吸着性多孔性膜30には、最大孔径と最小孔径の比が2以上である多孔性膜を好適に使用する事ができる。より好適には、最大孔径と最小孔径の比が5以上である多孔性膜を使用する事ができる。

【0075】

また、核酸吸着性多孔性膜30には、空隙率が50~95%である多孔性膜を好適に使用する事ができる。より好適には、空隙率が65~80%である多孔性膜を使用する事ができる。また、核酸吸着性多孔性膜30には、バブルポイントが、0.1~10kgf/cm²である多孔性膜を好適に使用する事ができる。より好適には、バブルポイントが、0.2~4kgf/cm²である多孔性膜を使用する事ができる。

【0076】

また、核酸吸着性多孔性膜30には、圧力損失が、0.1~100kPaである多孔性膜を好適に使用する事ができる。より好適には、圧力損失が、0.5~50kPaである多孔性膜を使用する事ができる。ここで、圧力損失とは、膜の厚さ100 μ mあたり、水を通過させるのに必要な最低圧力である。

【0077】

また、核酸吸着性多孔性膜30には、多孔性膜1mgあたりの核酸の吸着量が0.1 μ g以上である多孔性膜を好適に使用する事ができる。より好適には、多孔性膜1mgあたりの核酸の吸着量が0.9 μ g以上である多孔性膜を使用することができる。

【0078】

<第2の実施形態>

続いて、本発明の第2の実施形態について説明する。参照する図面において、図7は、第2の実施形態に係る核酸分離精製カートリッジ群の斜視図である。

【0079】

核酸分離精製カートリッジ群100は、図7に示すように、多数個の核酸分離精製カートリッジ2が連続して成形されたものである。

【0080】

核酸分離精製カートリッジ2は、第1の実施形態において説明した核酸分離精製カートリッジ1と、その構造をほとんど同じくするものであるが、隣り合う核酸分離精製カートリッジ2の一部（接続部3）で互いに連続している。

【0081】

核酸分離精製カートリッジ群 100 は、互いに連通した多数のキャビティ 51 (図 3 参照) が形成された射出成型型 (図示省略) を用いて作製される。そのため、多数のキャビティ 51 にセットされた多数の核酸吸着性多孔性膜 30 の周縁部 30a を押圧する樹脂 J の圧力が均等となる。したがって、核酸吸着性多孔性膜 30 を押圧する力のばらつきによって核酸吸着性多孔性膜 30 が破れたりシール不足となったりすることがなく、一度に多数個の核酸分離精製カートリッジ 2 (核酸分離精製カートリッジ群 100) を効率よく製造することができる。

【0082】

以上、本発明の実施形態について説明したが、本発明は前記実施形態には限定されない。例えば、第 2 の実施形態にかかる核酸分離生成カートリッジ群 100 は、核酸分離精製カートリッジ 2 同士が直接連結された状態となっているが、射出成型型に形成されたキャビティをランナーで連通し、射出成形した後に当該ランナーを切除して、多数の核酸分離精製カートリッジ 1 を製造するようにしてもよい。

【図面の簡単な説明】

【0083】

【図 1】 第 1 の実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの分解斜視図である。

【図 2】 第 1 の実施形態に用いるインサート材の拡大断面斜視図である。

【図 3】 核酸分離精製カートリッジと射出成型型の断面図であり、(a) はインサート材設置時、(b) は型閉じ時の状態をそれぞれ示している。

【図 4】 核酸分離精製カートリッジと射出成型型の断面図であり、(a) は樹脂注入時、(b) は注入完了時の状態をそれぞれ示している。

【図 5】 図 4 (b) の A 部を拡大して示した断面図であり、(a) は型閉じ時、(b) は型閉じ完了時、(c) は樹脂注入時、(d) は注入完了時の状態をそれぞれ示している。

【図 6】 第 1 の実施形態に係る核酸分離精製カートリッジの断面図である。

【図 7】 第 2 の実施形態に係る核酸分離精製カートリッジ群の斜視図である。

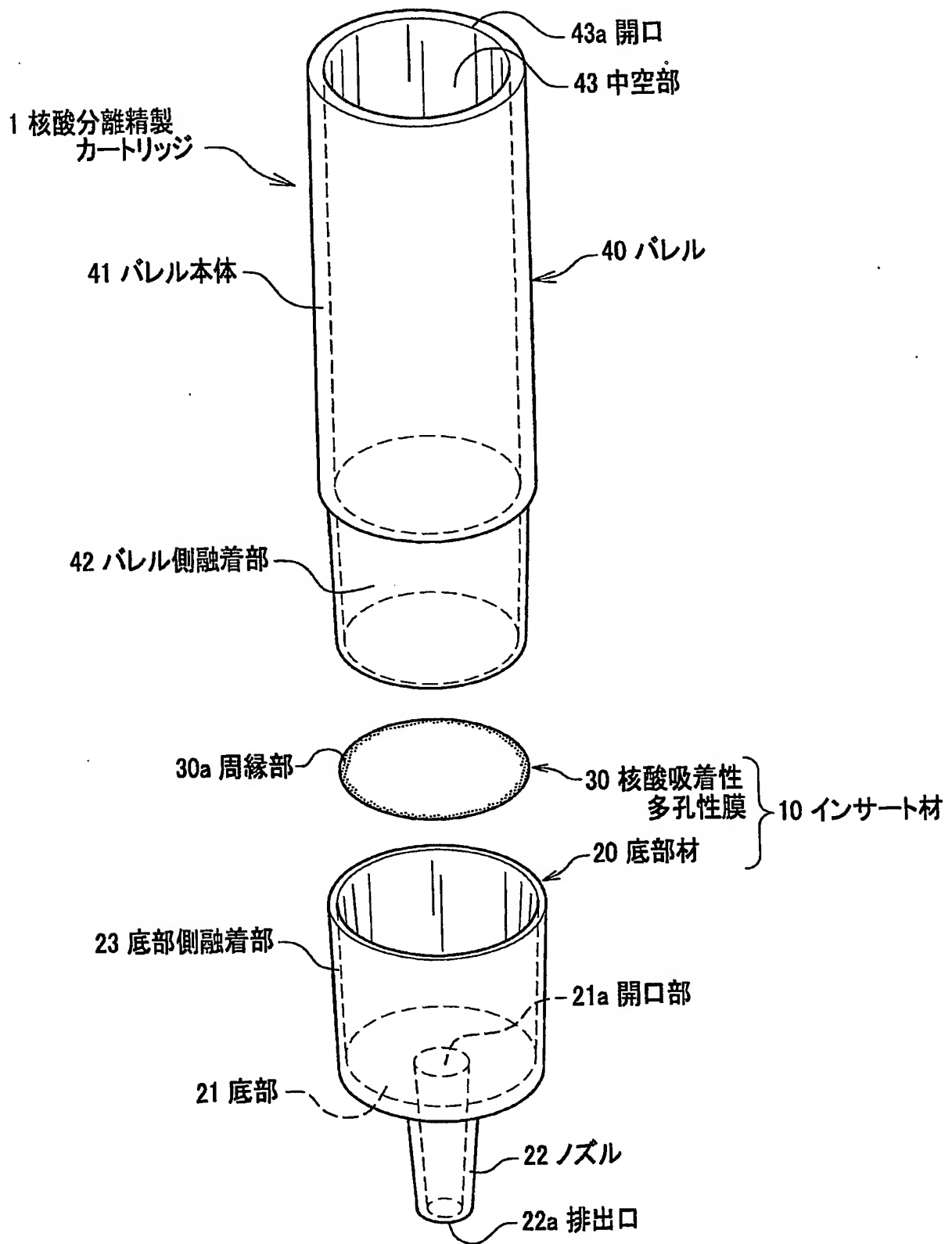
【符号の説明】

【0084】

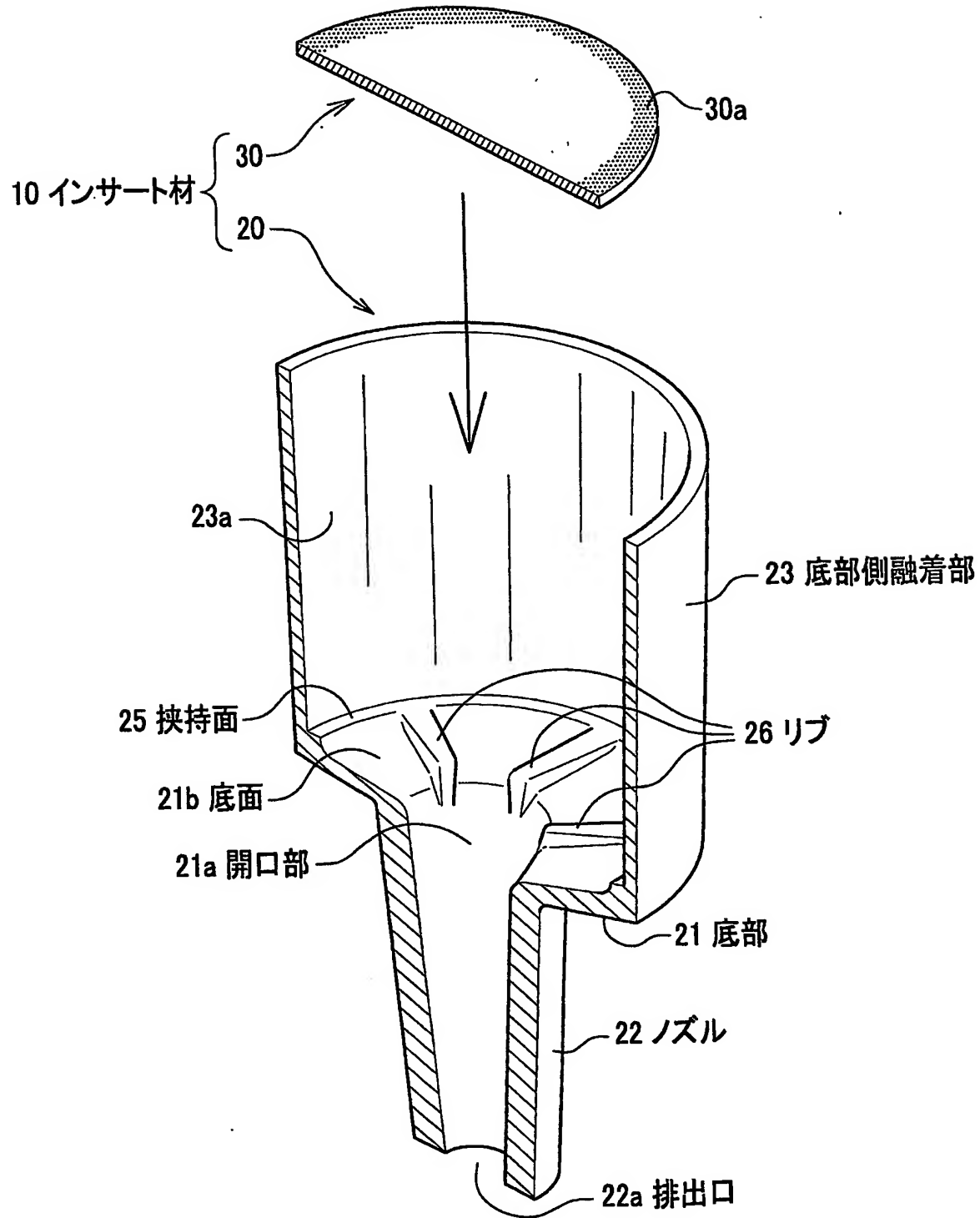
- | | |
|-----|---------------|
| 1 | 核酸分離精製カートリッジ |
| 10 | インサート材 |
| 20 | 底部材 |
| 30 | 核酸吸着性多孔性膜 |
| 40 | バレル |
| 100 | 核酸分離精製カートリッジ群 |
| J | 樹脂 |

【書類名】 図面

【図 1】

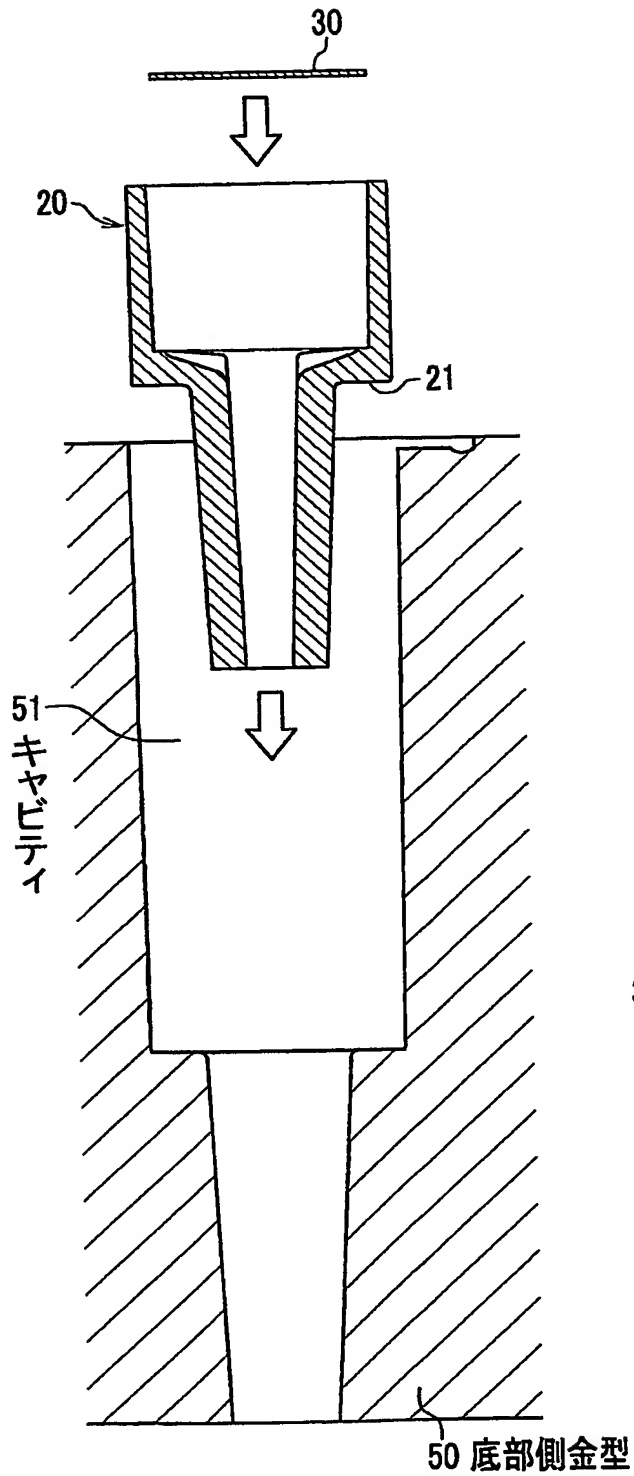


【図 2】

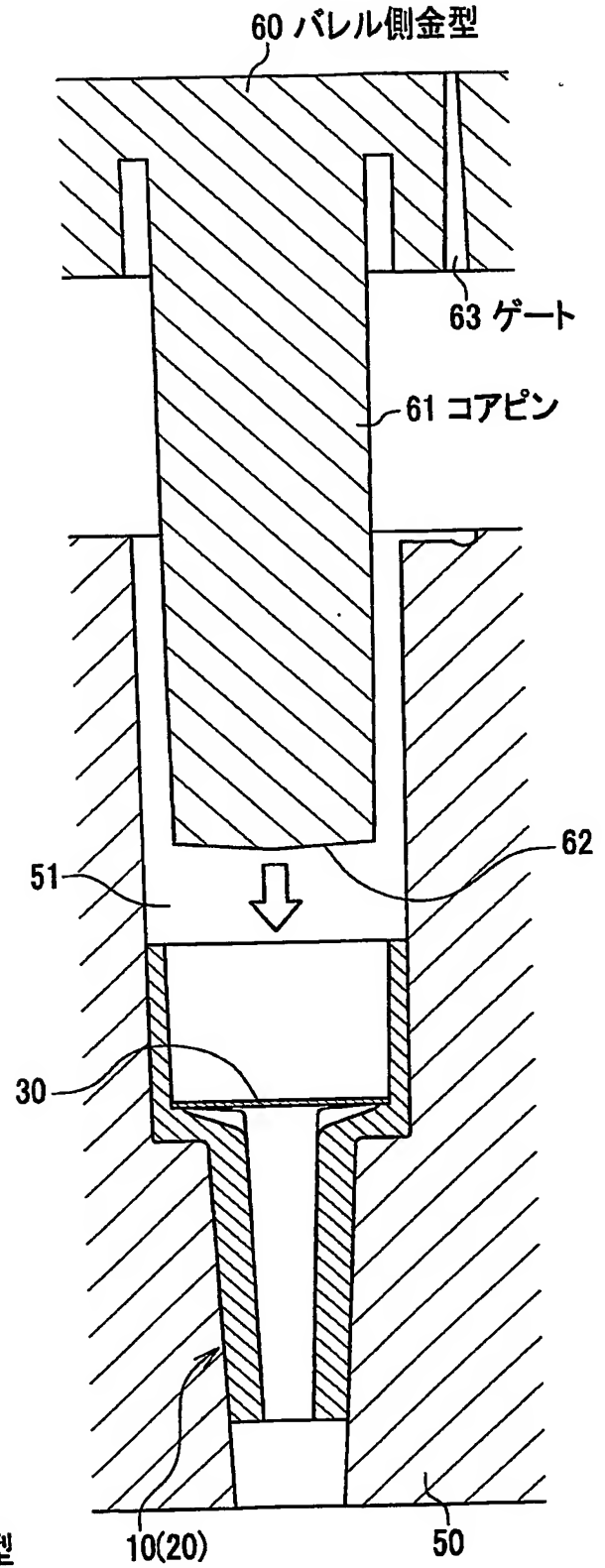


【図 3】

(a)



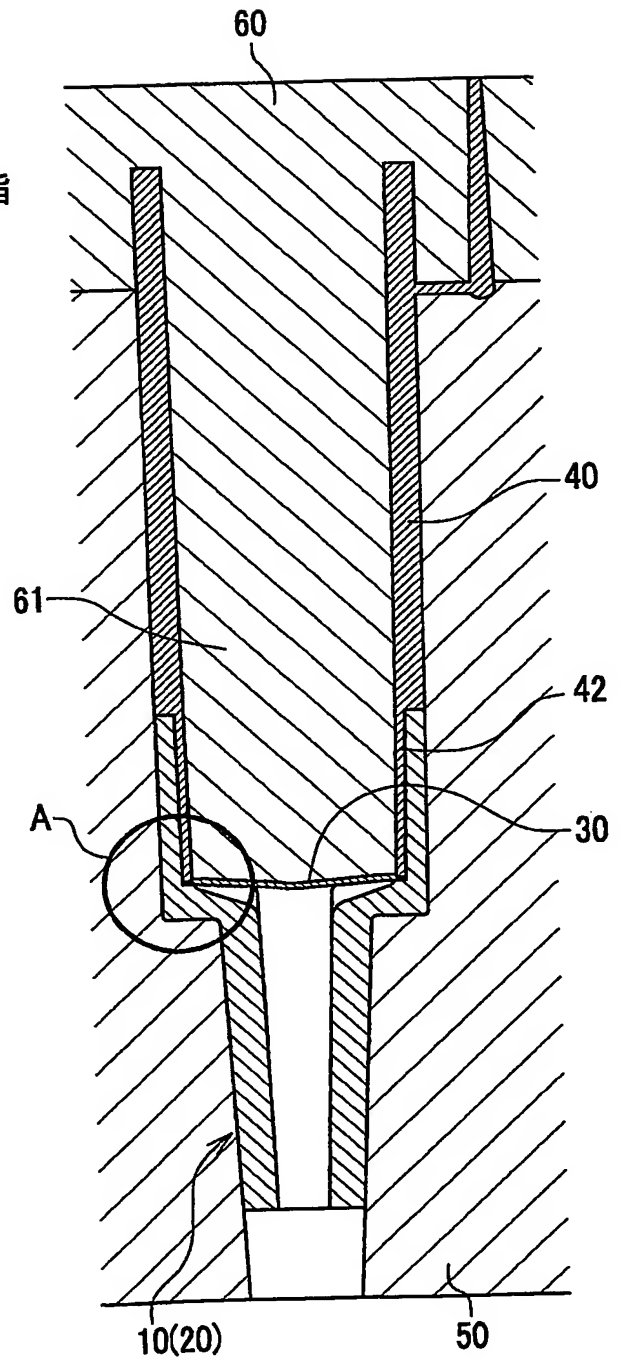
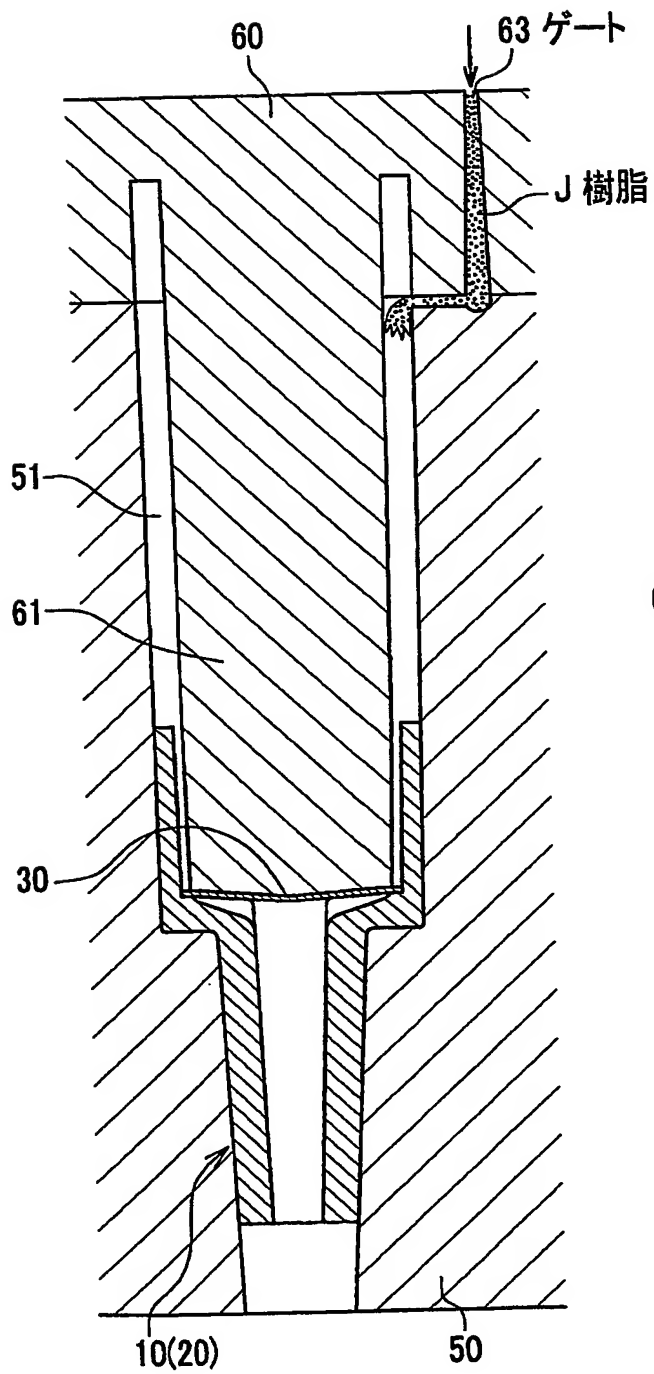
(b)



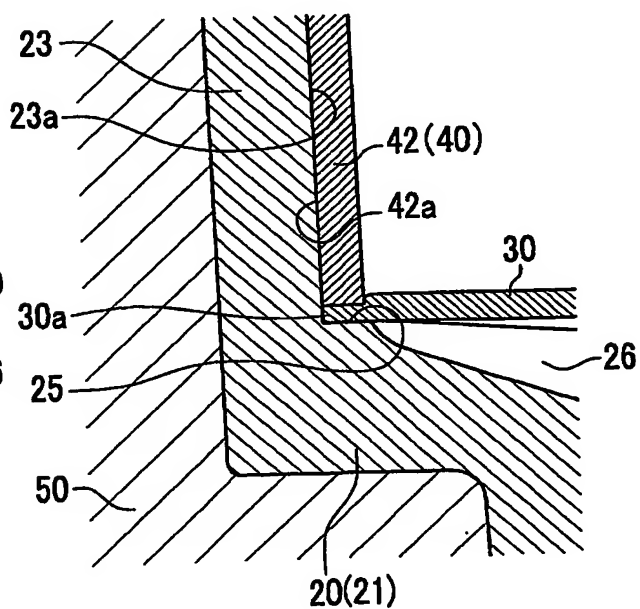
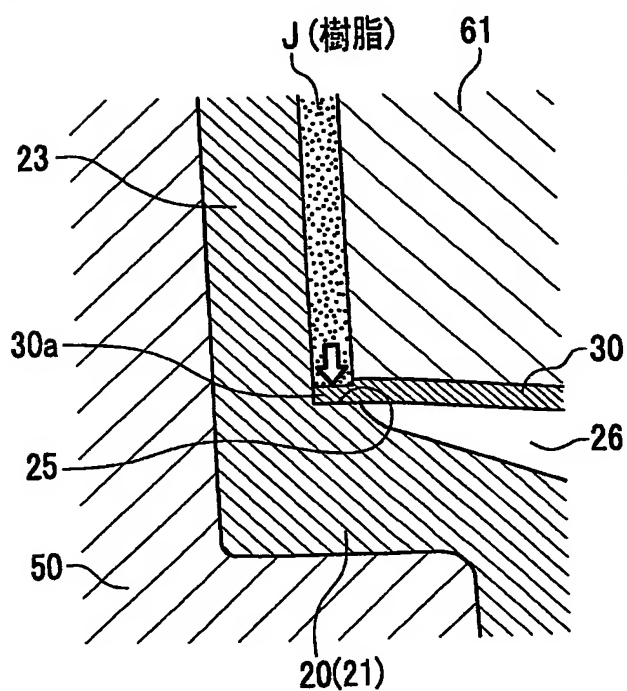
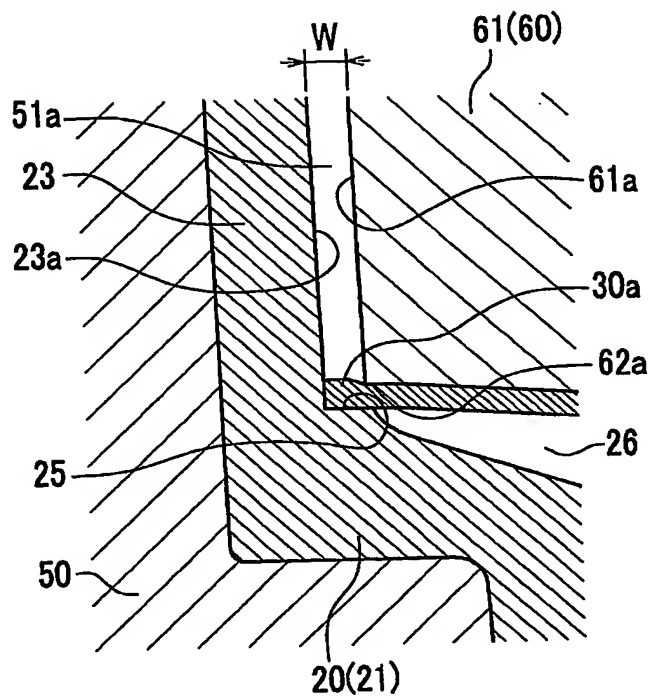
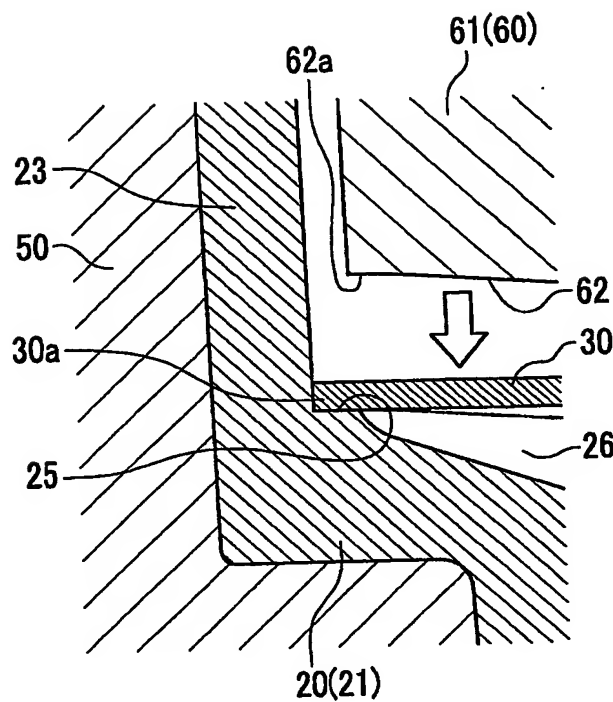
【図 4】

(a)

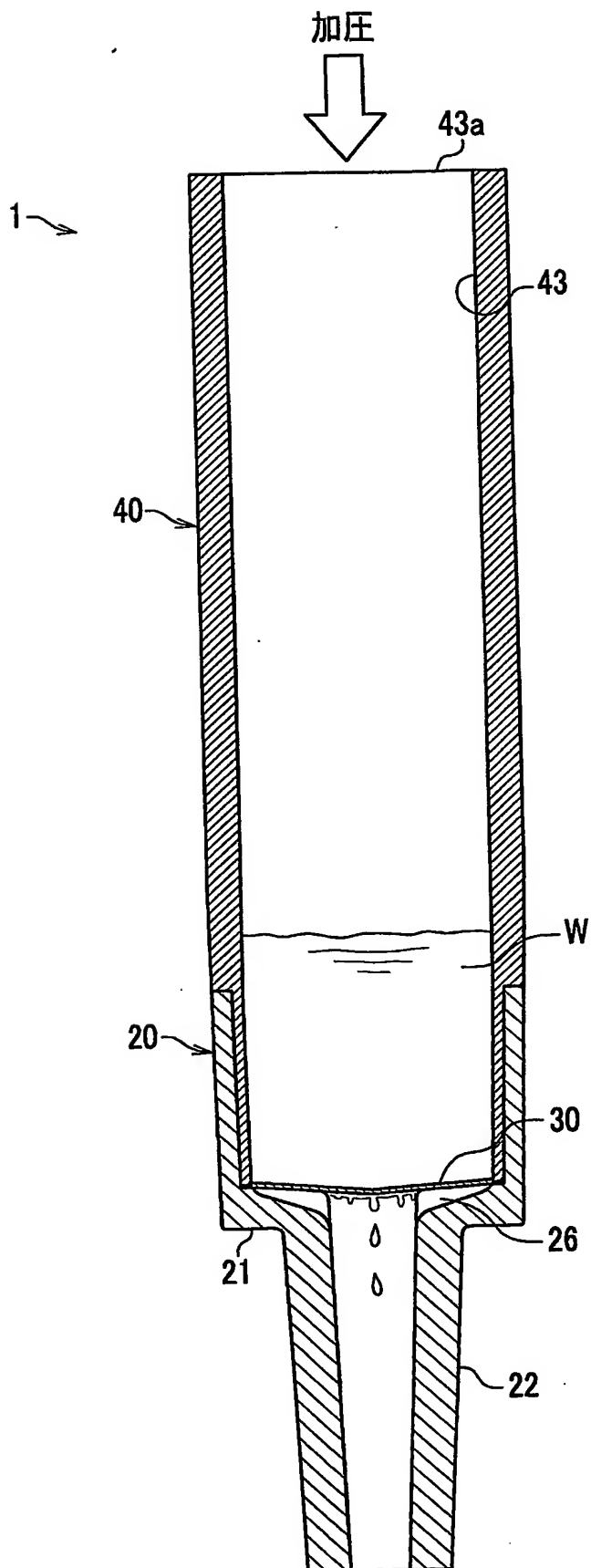
(b)



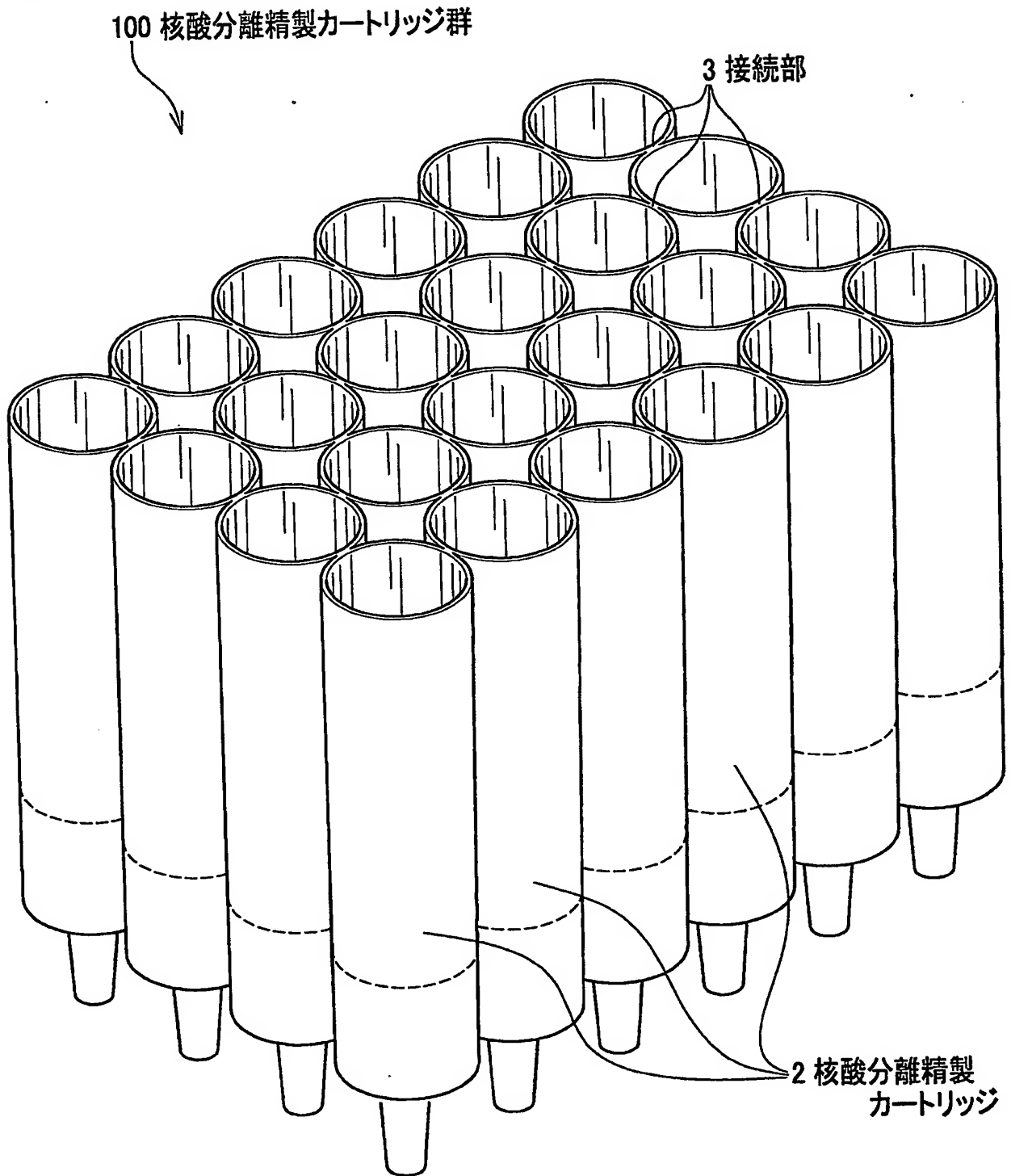
【図 5】



【図 6】



【図 7】



【書類名】 要約書**【要約】**

【課題】 容器を固着するための専用設備が不要であり、多数個を同時に製造することができる核酸分離精製カートリッジ及びその製造方法を提供する。

【解決手段】 底部材 20 と核酸吸着性多孔性膜 30 とからなるインサート材 10 と、このインサート材 10 に対してインサート射出成形されるバレル 40 とから核酸分離精製カートリッジ 1 を構成する。

【選択図】 図 4

特願 2003-361019

出願人履歴情報

識別番号

[000005201]

1. 変更年月日

[変更理由]

住所

氏名

1990年 8月14日

新規登録

神奈川県南足柄市中沼210番地

富士写真フイルム株式会社